

Epigenesis y epigenética: Ejemplos a partir de la morfología de los renacuajos

Marissa Fabrezi

Instituto de Bio y Geociencias del NOA (CONICET-UNSa), CCT-Salta. 9 de julio 14. Rosario de Lerma-4405. República Argentina.

Recibida: 20 Abril 2016

Revisada: 12 Mayo 2016

Aceptada: 15 Mayo 2016

Editor Asociado: C. de Oliveira

RESUMEN

La epigenética, como una disciplina científica que explora los mecanismos que originan nuevos fenotipos sin alterar el genoma, parece una novedad más ligada a los avances tecnológicos de la Biología Molecular y la Genética del Desarrollo. Sin embargo, el concepto de epigenesis fue propuesto mucho antes que las ideas de evolución y el papel de los genes en la continuidad de la vida cobraran forma. En este artículo, se analizan los conceptos de epigenesis y epigenética desde una amplia perspectiva biológica y para ello se utilizan como caso de estudio anuros de ambientes semiáridos de Norteamérica de la familia Scaphiropodidae y de Sudamérica de la familia Ceratophryidae. En ambos casos, se presentan las causas de las modificaciones en el desarrollo embrionario-larval que determinan que los tractos digestivos de los renacuajos resulten muy diferentes a los de la mayoría de los anuros y también se plantean los mecanismos moleculares que determinan cómo ocurre esta modificación. Al introducir los términos de epigenesis y epigenética con estos ejemplos se pretende demostrar la riqueza de interpretaciones que emergen al integrar múltiples enfoques del desarrollo animal.

Palabras clave: Evolución; Desarrollo; Variación.

ABSTRACT

Epigenesis and epigenetics: Examples from the morphology of tadpoles. The epigenetic, as a scientific discipline that explores the mechanisms that give rise to new phenotypes with no genome alteration, emerged as a new approach related to innovations in Molecular Biology and Developmental Genetics. However, the concept of epigenesis was proposed long before the paradigms of evolution and the role of genes in the continuity of life could achieve scientific reputations. Herein, I analyzed the concepts of epigenesis and epigenetic from a broad biological perspective. Therefore, I used as cases of study the anurans of semiarid environments of North America, family Scaphiropodidae, and South America, family Ceratophryidae. In both cases, I present the causes of changes in the embryo-larval development that determine differences in the digestive tracts of those tadpoles from most of the anurans and also I emphasize on the molecular mechanisms that determine how this change occurs. By introducing the terms of epigenesis and epigenetic with these examples I intend to demonstrate the value to integrate multiple approaches to the study of animal development.

Key words: Evolution; Development; Variation.

Las primeras ideas en torno a la sucesión de formas en la ontogenia han confrontado los conceptos de preformación y epigenesis (Gould, 1977). La preformación intentó explicar el origen de la forma animal a partir del material del huevo, el cual contenía determinantes “invisibles” de todas y cada una de las partes que existen en un individuo y asumió

que el desarrollo comprendía la elaboración de una forma preexistente. Más tarde, en el siglo XVIII, se propuso la teoría de la epigenesis que planteó que el desarrollo demandaba una “fuerza organizadora” que producía diferenciación fuera de la uniformidad de los materiales del huevo. Las preguntas en torno a cuáles eran esas fuerzas actuando sobre el desa-

rollo fortalecieron el debate entre preformación y epigénesis en el que esta última insinuó la idea de Evolución, como cambio orgánico unidireccional, antes de la publicación de las ideas de Darwin.

El término epigénesis deriva del latín y combina el prefijo *epi* “a continuación de” con *genesis*, algo que implica “principio u origen”; mientras que el término epigenética combina el mismo prefijo con genética, una palabra más relacionada con la estructura y dinámica de los genes. En las Ciencias Naturales, la epigénesis es muy importante ya que en Geología define al proceso de sustitución lenta de un mineral en el interior de una roca y en Biología se asocia a la definición de rasgos de un organismo durante el desarrollo.

Hacia mediados del siglo pasado, Waddington (1956) propuso a la epigenética como la explicación causal del desarrollo basada en las interacciones de los genes y el ambiente al definir un fenotipo. En esta idea combinó génesis (causalidad) con genética (mecanismo) para explicar la existencia de un epigenotipo que deriva de una historia adquirida (herencia) y una red de interacciones en el desarrollo especie-específicas (fenotipo).

La epigénesis propiamente dicha se refiere a la generación individual de formas embrionarias y/o larvales a través de una serie de interacciones causales (Müller y Olsson, 2003). Esto significa que el desarrollo no es solamente la lectura de un programa genético sino que también depende de interacciones especie-específicas e intercambios con factores endógenos y/o exógenos no codificados por el ADN (Fig. 1). En el paradigma de la EvoDevo, epigénesis y epigenética recuperaron su valor para explicar

fenómenos que pudieron ser identificados intuitivamente antes de conocer los principios de la evolución biológica y el papel de los genes en la continuidad de la vida. En esta nueva etapa, la discusión en torno a la epigenética frecuentemente ignora el problema del origen embrionario de la forma que dio lugar al debate preformación-epigénesis y se focaliza en aspectos moleculares que producen alguna variación fenotípica que no es consecuencia de una alteración en la secuencia de un gen. Sin embargo, el término epigénesis, más amplio, se refiere a diferentes áreas de investigación (genética molecular, desarrollo, herencia, ecología y evolución) que a pesar de estar relacionadas e integradas, necesitan todavía convertirse en una herramienta conceptual común que promueva el estudio de las relaciones causales entre genes, fenotipos y ambiente para formular modelos integrales de la evolución (Müller y Olsson, 2003). En esta contribución trataré de acercarme a esta integración.

El desarrollo de los anuros

El linaje de los anuros comprende más de 7000 especies continentales que habitan en todo el planeta con excepción de latitudes superiores a los círculos polares y el desierto de Sahara (Frost, 2015). Entre esas 7000 especies, la mayoría tienen ciclos de vida con renacuajos; sin embargo los clados más especiosos son aquellos con desarrollo directo. La evolución del desarrollo en el grupo ha conducido a cinco tipos morfológicos y ecológicos de renacuajos los cuales se reconocen en grandes linajes; mientras que la pérdida del período larval (desarrollo directo) ha ocurrido de manera independiente en más de 13

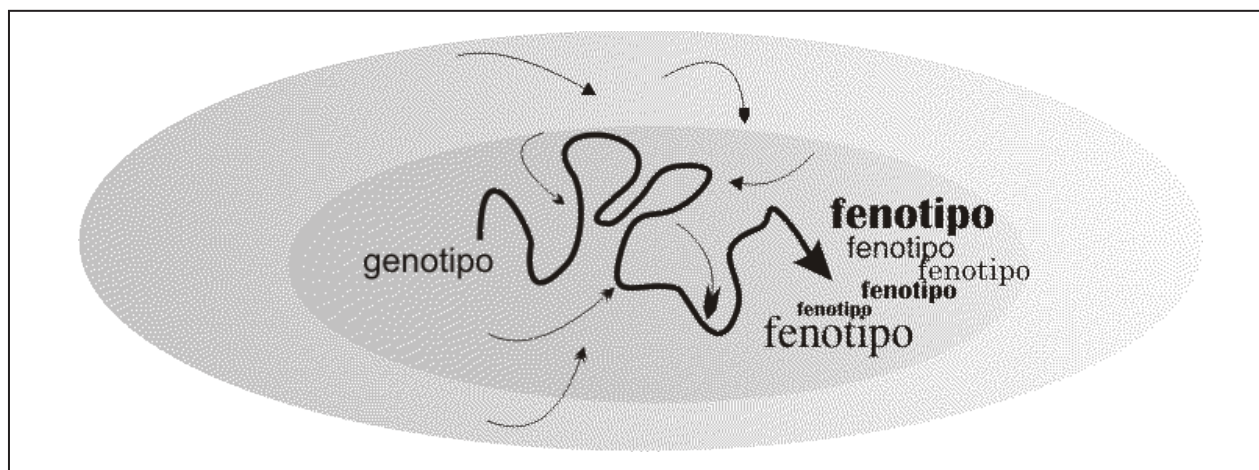


Figura 1. Interpretación de la epigénesis y/o desarrollo epigenético. La relación entre genotipo, fenotipo y ambiente no es lineal y una vez que el desarrollo comienza o se activa el genotipo hay un conjunto de interacciones que van definiendo el/los fenotipos.

clados (Hanken, 2003; Roelants *et al.*, 2011; Quinzio y Fabrezi, 2014).

Las tablas de desarrollo son herramientas de análisis que usamos los biólogos para identificar y ordenar eventos de la ontogenia según una secuencia de cambios externos del organismo en cuestión o un organismo modelo. La Figura 2 resume la ontogenia de una rana que tiene desarrollo larval siguiendo las generalidades de una tabla de desarrollo estándar (Gosner, 1960). Las características compartidas por los anuros con desarrollo larval reflejan en cierta medida la existencia de mecanismos que limitan las posibilidades de variación durante el desarrollo (developmental constraint). Un “developmental constraint” puede ser identificado en estudios embriológicos al producir ciertas morfologías en condiciones experimentales (Oster *et al.*, 1988; Alberch y Gale, 1983). También este esquema de la ontogenia nos permite detectar variación dentro de ciertos límites, con la heterocronía como el fenómeno más conocido y discutido en la generación de diferencias fenotípicas (Alberch y Blanco, 1996; Reilly *et al.*, 1997; Fabrezi, 2012). La heterocronía produce cambios en el tiempo en el que ocurren determinados eventos del desarrollo y puede tener o no consecuencias en los rasgos definitivos.

La Figura 2 también reconoce que existen unidades modulares en el desarrollo que tienen sus propias trayectorias que varían de manera independiente con respecto a otras. Por ejemplo en un renacuajo, la morfogénesis, desarrollo y crecimiento de las extremidades ocurre sin influenciar funciones importantes del renacuajo, de hecho podríamos extirpar los esbozos de las extremidades y eso afectaría la vida solamente después de la metamorfosis. Esta modularidad del desarrollo es una de las características que hace que determinados “módulos” resulten más diversos que otros en la evolución de los vertebrados. En los anuros con ciclos de vida complejos podemos identificar tres unidades modulares en el desarrollo que implican: órganos y sistemas que son condición para la existencia del renacuajo como tal y desaparecen con la metamorfosis (estructuras queratinizadas de la boca, tubo anal, cola, sistema de la línea lateral); órganos y sistemas presentes en la larva que sufren una remodelación estructural durante la metamorfosis (cartílagos de los arcos viscerales, el tracto digestivo, músculos mandibulares e hiobranquiales, piel) y órganos y sistemas que serán funcionales después de la metamorfosis (apéndices pares, aparato hiogloso, órganos reproductores).

Tal como se grafica en la Figura 2, en una especie determinada existen factores ambientales que influyen sobre el desarrollo larval y dentro de determinados límites pueden producir modificaciones en el fenotipo de los renacuajos o de los estadios al finalizar la metamorfosis (Willbur y Collins, 1973; Downie *et al.*, 2004). Los estudios de plasticidad fenotípica enfatizan la relación fenotipo y ambiente y han demostrado que los organismos tienen capacidad de responder a las influencias del ambiente de manera diferencial y que esto se hereda lo cual muchas veces explica la presencia de una especie en determinadas condiciones y no de otras.

En la Figura 2 también se tiene en cuenta que las hormonas actúan sobre el desarrollo. El sistema endócrino es muy especial ya que las señales ambientales actúan sobre el eje hipotálamo-hipófisis-tejido secretor. El estímulo recibido por el hipotálamo a través de diferentes órganos sensoriales, es transferido a la hipófisis por un factor que libera corticotropina, ésta a su vez estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrófica que produce la liberación de corticosteroides y por ejemplo, la hormona estimulante de la tiroides que ocasiona la secreción de tiroxina y triiodotironina en el caso de la glándula tiroides. Tanto las hormonas tiroideas como los corticosteroides actúan de forma conjunta en los tejidos periféricos que responden durante la metamorfosis (Denver, 2013). Otras hormonas como la prolactina, parecen actuar sobre la morfología larval y en determinadas condiciones ambientales antagoniza con las hormonas tiroideas y retrasa la metamorfosis (Emerson, 1988; Wassersug, 1997).

Las hormonas tiroideas han sido las “moléculas” preferidas para estudiar la diferenciación y el crecimiento y en el caso de los animales con ciclos de vida complejos, la metamorfosis (Etkin, 1936; Dodd y Dodd, 1976; Denver, 2013). En los anuros, es bien sabido que las glándulas tiroides aumentan su actividad secretora a medida que el desarrollo avanza y se activan los receptores para la hormona en los diferentes órganos y sistemas hasta alcanzar una máxima expresión durante la metamorfosis. En algunas especies en cautiverio, los renacuajos pueden sufrir de una carencia de glándulas tiroideas espontáneamente, hecho que se traduce en que crecen durante mucho tiempo, se convierten en renacuajos gigantes, pero no pueden sufrir la metamorfosis aunque algunos tejidos como las gónadas y el pulmón prosiguen su diferenciación (Rot-Nikcevic y Wassersug, 2003, 2004; Kerney *et*

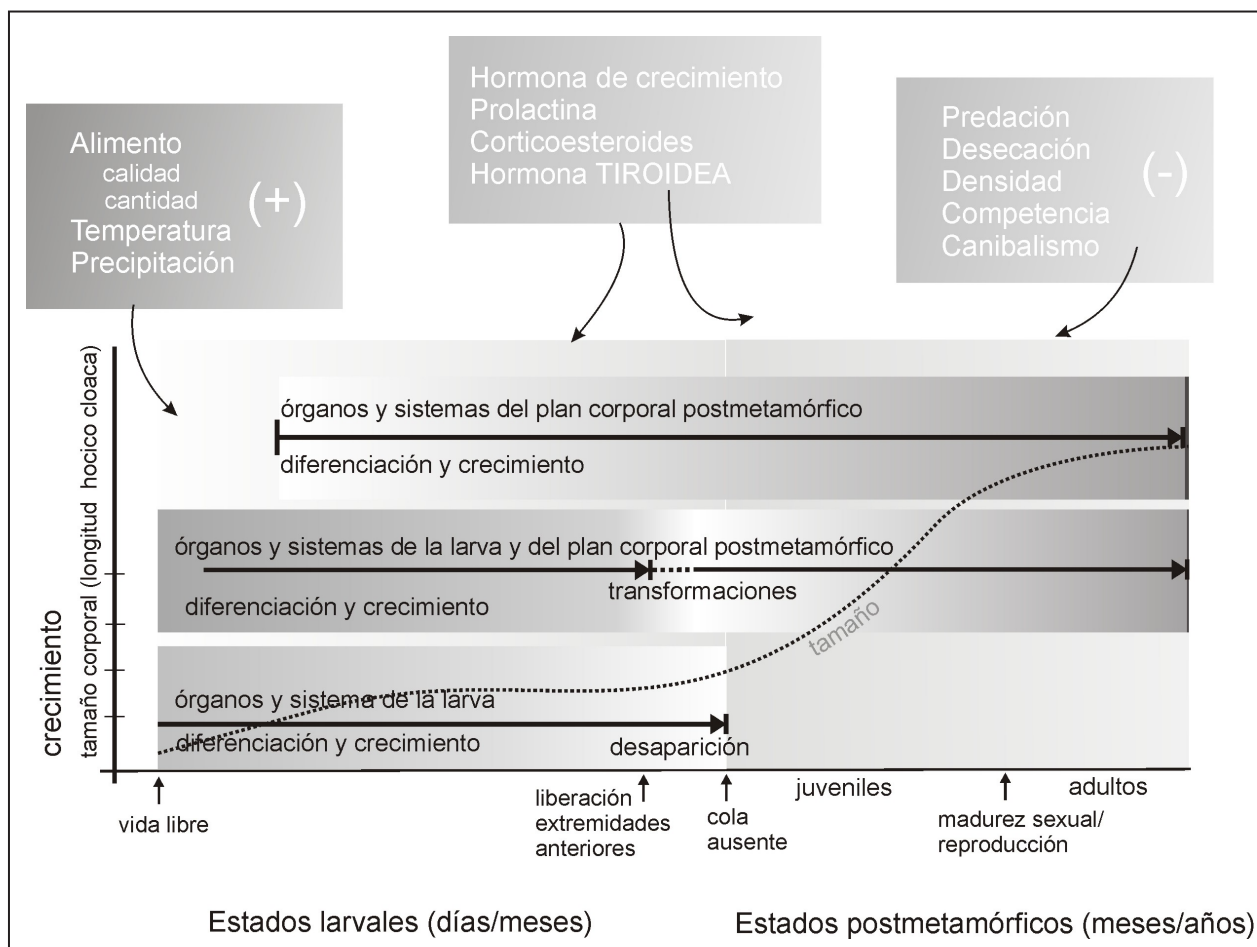


Figura 2. Esquema de una generación en un anuro con desarrollo larval. El eje X representa los eventos que pueden ser comparados entre ontogenias de distintas especies independientemente del tiempo real en que ocurren. Estos eventos implican morfogénesis, diferenciación, transformación y/o desaparición de órganos y estructuras. Se grafican las tres unidades modulares en las que se organiza el desarrollo de un anuro. En el eje Y se representa la variación en el tamaño corporal (sin considerar la cola para los estadios larvales). Se indican además factores endógenos (hormonas) y exógenos (variables ambientales) que actúan sobre el desarrollo larval produciendo cambios fenotípicos.

al., 2009). La existencia de larvas sin tiroides sugiere que la hormona tiroidea es fundamental para numerosos cambios metamórficos. Entre estos cambios se encuentran los que ocurren en el tubo digestivo del morfotipo omnívoro de la larva para transformarse en el morfotipo carnívoro depredador del adulto (Stolow *et al.*, 1997; Schreiber *et al.*, 2005).

El tracto digestivo y la dieta

Las larvas de anuros tienen un sistema digestivo relativamente simple y una dieta omnívora que consiste de partículas orgánicas en suspensión. Durante la metamorfosis se produce una remodelación profunda del tracto digestivo que involucra su acortamiento y la diferenciación de partes histológica y fisiológicamente distintivas (Schreiber *et al.* 2005). Acompañando estos cambios morfológicos se produce el crecimiento del hígado y páncreas y de sus

conexiones con el intestino. Las consecuencias biológicas de estas transformaciones se centran en que después de la metamorfosis un anuro es carnívoro y depredador lo cual conlleva la integración morfofuncional de partes para la búsqueda activa de las presas (otros animales), atraparlas (lengua protráctil y pegajosa), deglutirlas, digerirlas y assimilarlas.

En condiciones naturales, además de las larvas omnívoras con un intestino muy largo (Fig. 3A), existen larvas con un morfotipo carnívoro en el que básicamente se reconoce un acortamiento muy pronunciado del intestino (Fig. 3B) (Pfennig y Murphy, 2000; Ulloa Kreisel, 2001) mientras que excepcionalmente en unas tres especies se han descrito larvas con un morfotipo carnívoro-depredador tipo adulto (Fig. 3C) (Carroll *et al.*, 1991; Ulloa Kreisel, 2002; Fabrezi, 2011, Bloom *et al.*, 2013).

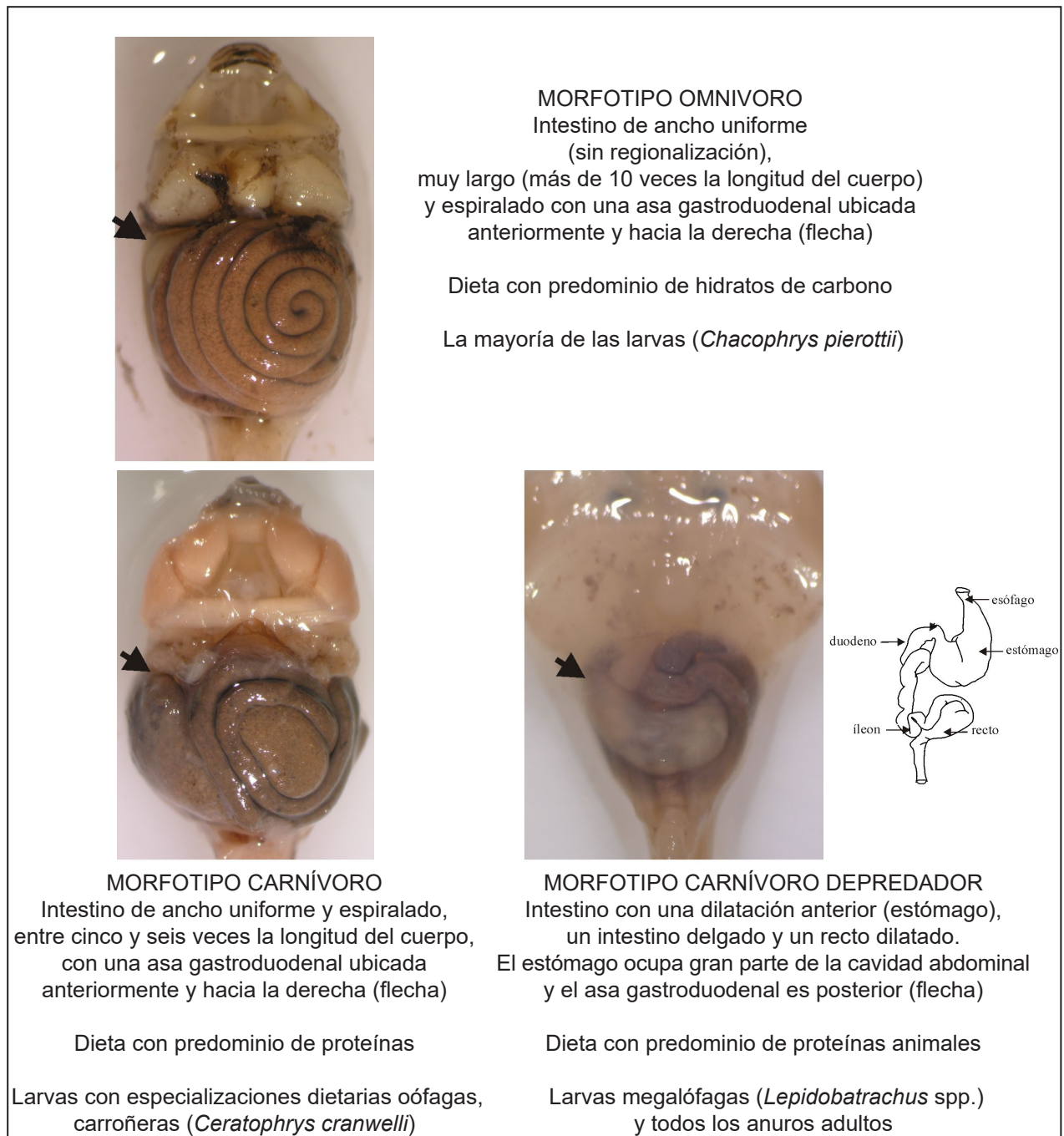


Figura 3. Morfotipos larvales según las características del tracto digestivo.

Epigénesis o causalidad: interacciones entre el desarrollo, el fenotipo y el ambiente. Los sapos *Spea* spp.

La familia Scaphiopodidae constituye un linaje formado por siete especies que habitan en América del Norte y se encuentra relacionado a otro linaje (Pelobatidae + Pelodytidae + Megophryidae) de la región Paleártica (Fig. 4; Pyron y Wiens, 2011). Los Scaphiopodidae (*Spea* y *Scaphiopus*) se caracterizan por su cuerpo globoso, miembros cortos, hiperosi-

ficación y la presencia en la pata de un capuchón queratinizado que es sostenido por el elemento distal del prehallux hipertrofiado, todo lo cual representa un órgano cavador. Habitan en ambientes áridos y semiáridos y se reproducen explosivamente después de fuertes lluvias en los meses más calurosos. Los estudios de plasticidad fenotípica en *Scaphiopus* spp. y *Spea* spp. han documentado como la dieta, el comportamiento intra e interespecífico, incluido el canibalismo; la desecación, están relacionadas con

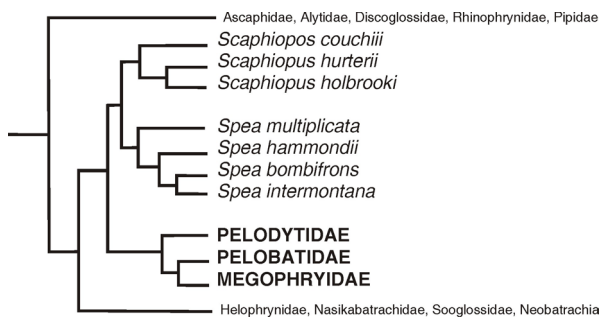


Figura 4. El linaje de los Scaphiophryninae, en la hipótesis de relaciones filogenéticas con base en secuencias de 12 genes (nueve mitocondriales y tres nucleares) de los Anura (Pyron y Wiens, 2011).

la aparición de dos morfotipos larvales (omnívoro y carnívoro) y/o cambios en las tasas de crecimiento y desarrollo (Fig. 5). En *Spea*, tanto la hormona tiroidea exógena como una dieta proteica a base de anfípodos (los cuales se reproducen explosivamente después de fuertes lluvias en los meses más calurosos) inducen el morfotipo carnívoro, que según sus interacciones con otros renacuajos (hermanos o no) puede derivar en un comportamiento caníbal. Estudios que han explorado un poco más allá de la relación fenotipo y ambiente, han sido los que demostraron que un incremento en las hormonas de stress (corticosteroides) y un incremento en la hormona tiroidea (TH) circulante o en la sensibilidad de los tejidos a la TH pueden producir una aceleración del desarrollo (Buchholz y Hayes, 2005; Ledón-Rettig *et al.*, 2009; 2010; Gomez Mestre *et al.*, 2013); sin embargo sólo en el caso de *Spea* el cambio en la fisiología de las hormonas está asociado a un incremento en la tasa de crecimiento larval y es por la aparición del morfotipo carnívoro que también puede ser caníbal.

El caso de los sapos del género *Spea* permite discutir o analizar la epigénesis como un fenómeno donde el origen del morfotipo carnívoro estaría asociado a la dieta (crustáceos de agua dulce y otros renacuajos) y tiene como resultado una aceleración del desarrollo (adelantamiento de la metamorfosis). En la aceleración del desarrollo interviene un incremento en la concentración de TH o en la sensibilidad de los tejidos a la TH y curiosamente tanto los crustáceos como otros renacuajos son ricos en precursores de TH, es decir, la dieta proporciona fuentes suplementarias de TH para adelantar cambios en la anatomía del intestino. Hasta aquí, no he mencionado los genes ni los mecanismos que viabilizan el origen del fenotipo carnívoro pero

he descrito un escenario en el que la evolución de las ranas *Spea* resulta de las interacciones causales durante su ontogenia.

Epigenética: causas y mecanismos en la evolución de los ceratófridos

En Genética Molecular y Genética del Desarrollo se habla más de epigenética, término que se refiere a las modificaciones de la actividad génica que no implican alteraciones en las secuencias y que originan cambios en las funciones de células nuevas con consecuencias en el fenotipo (Müller y Olsson, 2003). En estas disciplinas se han explorado mecanismos moleculares que subyacen al mantenimiento de la identidad celular y encuentran que cierta herencia epigenética (relacionada con la meiosis y la mitosis) puede afectar a múltiples generaciones para convertirse en un aspecto fundamental de la evolución biológica (Bonasio, 2015).

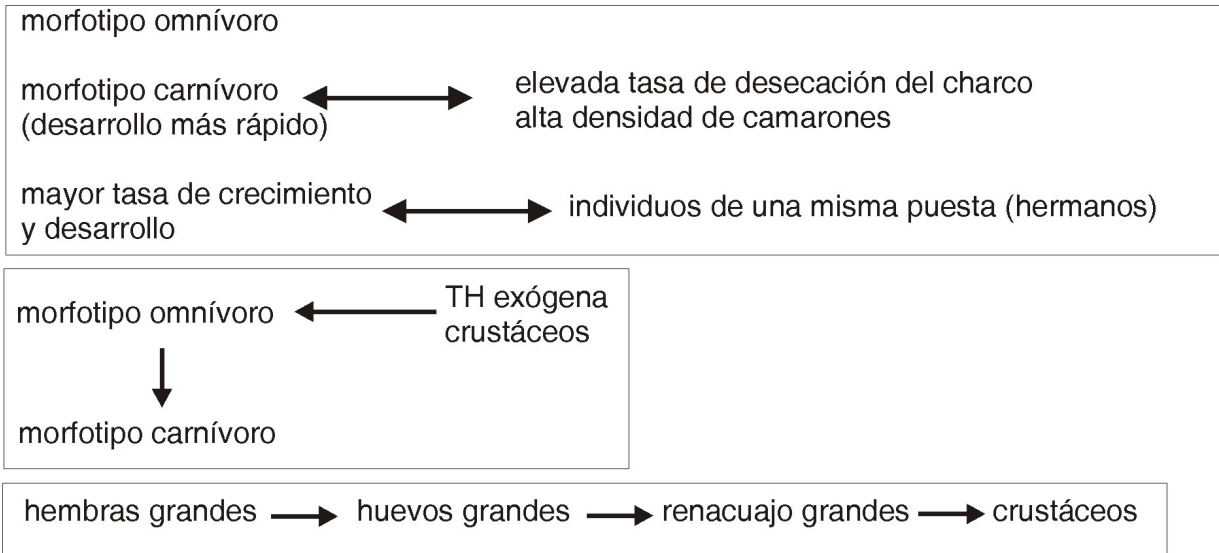
La familia Ceratophryidae es monofilética y está formada por 12 especies agrupadas en tres géneros. La monofilia y la hipótesis de relaciones que se muestran en la Figura 6 están basadas en un análisis de secuencias de siete genes mitocondriales y seis genes nucleares (Faivovich *et al.*, 2014). Las ranas de la familia Ceratophryidae son conocidas como escuerzos, habitan las planicies al este de los Andes, en ambientes áridos y semiáridos. En el Chaco sudamericano coexisten los tres géneros de escuerzos y las cuatro especies de los géneros *Lepidobatrachus* y *Chacophrys*. Los escuerzos adultos son voraces y caníbales y se reproducen explosivamente con las lluvias torrenciales de los meses más calurosos, como los escafiopódidos.

En la diversificación morfológica de la familia, uno de los aspectos más notables es la distinción de las larvas de cada género. La larva de *Chacophrys pierottii* responde al morfotipo omnívoro (Quinzio *et al.*, 2006), la larva de *Ceratophrys* corresponde al morfotipo carnívoro (Wassersug y Heyer, 1988; Ulloa Kreisel, 2001) y la de *Lepidobatrachus* spp. al morfotipo carnívoro depredador (Ruibal y Thomas, 1988; Wassersug y Heyer, 1988; Ulloa Kreisel, 2002; Fabrezi, 2011).

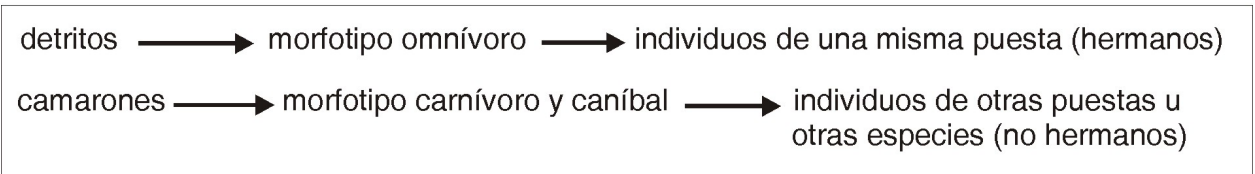
Para entender cómo se originaron estas diferencias, se han investigado los mecanismos moleculares que podrían haber actuado en esta diferenciación del tracto digestivo en la evolución de los Ceratophryidae (Bloom *et al.*, 2013):

1) En un primer experimento, se utilizaron pequeñas moléculas (más de 200 compuestos) en

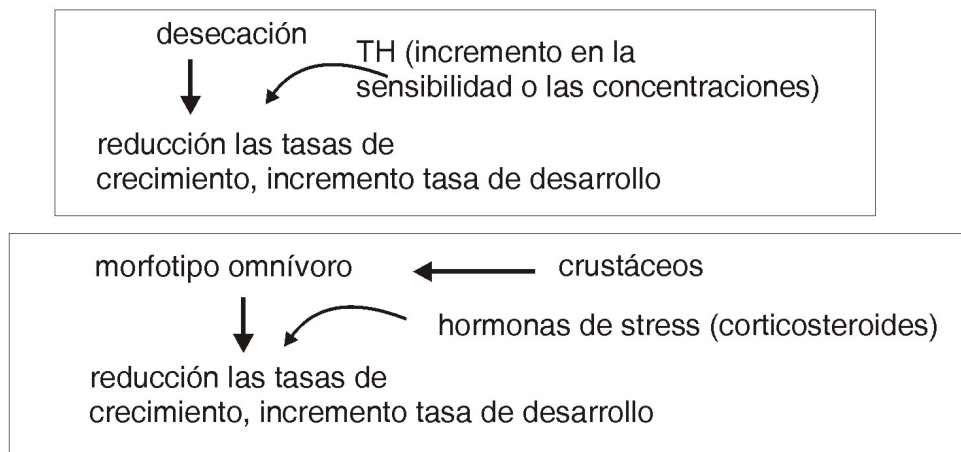
Spea multiplicata (Pfennig, 1990 a y b; 1992; Martin & Pfennig, 2010))



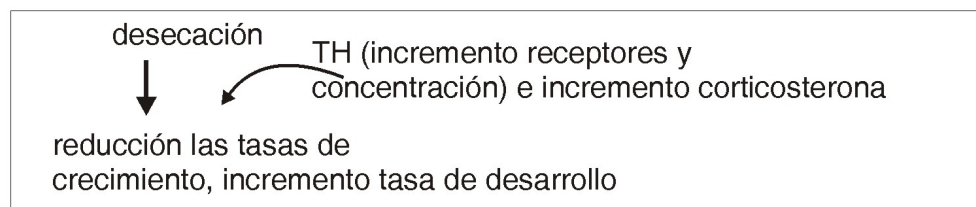
Spea bombifrons (Pfennig et al, 1993)



Scaphiopus couchii (Buchholz & Hayes, 2005; Ledón-Rettig et al., 2009; 2010)



Pelobates cultripes (Gomez Mestre et. al., 2013)



diferentes concentraciones que se aplicaron a embriones de la rana modelo para experimentación, *Xenopus laevis* (morfotipo omnívoro), en *Ceratophrys* (morfotipo carnívoro) y *Lepidobatrachus laevis* (morfotipo carnívoro depredador). Estas moléculas, llamadas “chemical genetic screen” (biocidas, analgésicos, hormonas, etc.) producen diversos efectos (inhibición/activación de síntesis de proteínas, disrupción endócrina, etc.) que sin cambiar el genoma producen nuevos fenotipos durante el desarrollo.

a) Tres moléculas fueron las que provocaron alteraciones en los morfotipos omnívoro y carnívoro en la región anterior del intestino insinuando el desplazamiento en dirección ventral y posterior del asa gastroduodenal lo cual refleja la condición del morfotipo carnívoro depredador (o adulto) (Fig. 3C). Estas moléculas fueron la latrunculina (toxina de origen animal que inhibe la polimerización de la actina), ciclopamina (alcaloide de origen vegetal que inhibe la ruta de señalización de hedgehog/smoothened, proteínas fundamentales en el desarrollo embrionario) y la triiodotironina (T3, la hormona que produce cambios metamórficos).

b) Otra molécula, el ácido retinoico produjo cambios en el fenotipo carnívoro-depredador que dio lugar al morfotipo omnívoro, con un asa gastroduodenal muy anterior, el hígado por detrás y el páncreas apoyado sobre esta asa. El ácido retinoico es un metabolito de la vitamina A que es generado en una región específica, permite determinar la posición a lo largo del eje anterior/posterior del embrión y sirve como una molécula de señalización intercelular que guía el desarrollo de la parte posterior del embrión.

2) Un segundo experimento consistió en comparar la expresión del gen *Pitx2* el cual es responsable del establecimiento del eje izquierda derecha, la asimetría en el desarrollo del corazón, los pulmones, la vejiga y la torsión del intestino y el

estómago en embriones de vertebrados. El experimento se realizó en embriones de los diferentes morfotipos larvales antes de la diferenciación del tracto digestivo. La expresión fue revelada mediante hibridización *in situ* y demostró que se extiende posterior y ventralmente en el embrión de *Lepidobatrachus*, lo cual es coherente con la posición del estómago y del asa gastroduodenal en los futuros estadios del desarrollo (Fig. 6).

Los experimentos mostraron que pequeñas alteraciones moleculares pueden haber sido la causa que originó tan marcadas morfologías en el tracto digestivo de este grupo de ranas. Así, un incremento inicial en las dosis de TH y una disminución de las señales del ácido retinoico podrían haber sido desencadenantes para el origen del morfotipo carnívoro depredador en *Lepidobatrachus* (Bloom *et al.*, 2013).

Por otra parte también se ha especulado a partir del desarrollo muy rápido que caracteriza a los escuerzos y de la aparición adelantada de cambios metamórficos (por ejemplo secreción de pepsinógenos en *Ceratophrys* y *Lepidobatrachus*, Carroll *et al.*, 1991), que la hormona tiroidea, o la sensibilidad de algunos tejidos a esta hormona podrían estar incrementados tempranamente en el desarrollo de los escuerzos (Bloom *et al.*, 2013).

Al explorar la actividad secretora de la glándula tiroides entre los escuerzos se encontró que las glándulas tiroides tienen ciertas particularidades no frecuentes en otros anuros, como por ejemplo son multilobuladas y se presentan como grupos de pequeños paquetes de lóbulos dispersos en la musculatura del piso de la boca (Fabrezi y Cruz, 2014). Y además en *Lepidobatrachus* son más pequeñas y no muestran el pico de actividad glandular que normalmente se presenta en la mayoría de las ranas al comenzar la metamorfosis. Fabrezi y Cruz (2014) propusieron como posibles explicaciones: (1) como los huevos de los ceratófridos son grandes (1.8-2.5 mm) podrían acumular moléculas maternas (incluyendo T3 y T4) suficientes para acelerar el desarrollo inicial y el crecimiento (Weber *et al.*, 1994; Morvan Dubois *et al.*, 2014); (2) la proliferación de folículos tiroideos ectópicos multiplica el tejido secretor, lo cual

← **Figura 5.** Estudios que demostraron interacciones fenotipo-ambiente en distintos sapos cavadores del hemisferio Norte (Scaphiropodidae). Apparently, the duration of the larval period shows a tight correlation with the rate of desiccation of a pond. The presence of shrimps induces the differentiation of the carnivorous morphotype in *Spea*, while in *Scaphiopus* it accelerates metamorphosis but reduces the rate of growth. The interactions between siblings of the same clutch (siblings), of the same species and of other species limit cannibalism between siblings. In *Spea*, the larger females lay larger eggs, which develop in larger siblings that, in turn, eat crustacean amphipods, rich in diiodothyronine. In *Pelobates* and *Scaphiopus*, desiccation produces a shortening of the larval period but it implies a smaller size in metamorphosis.

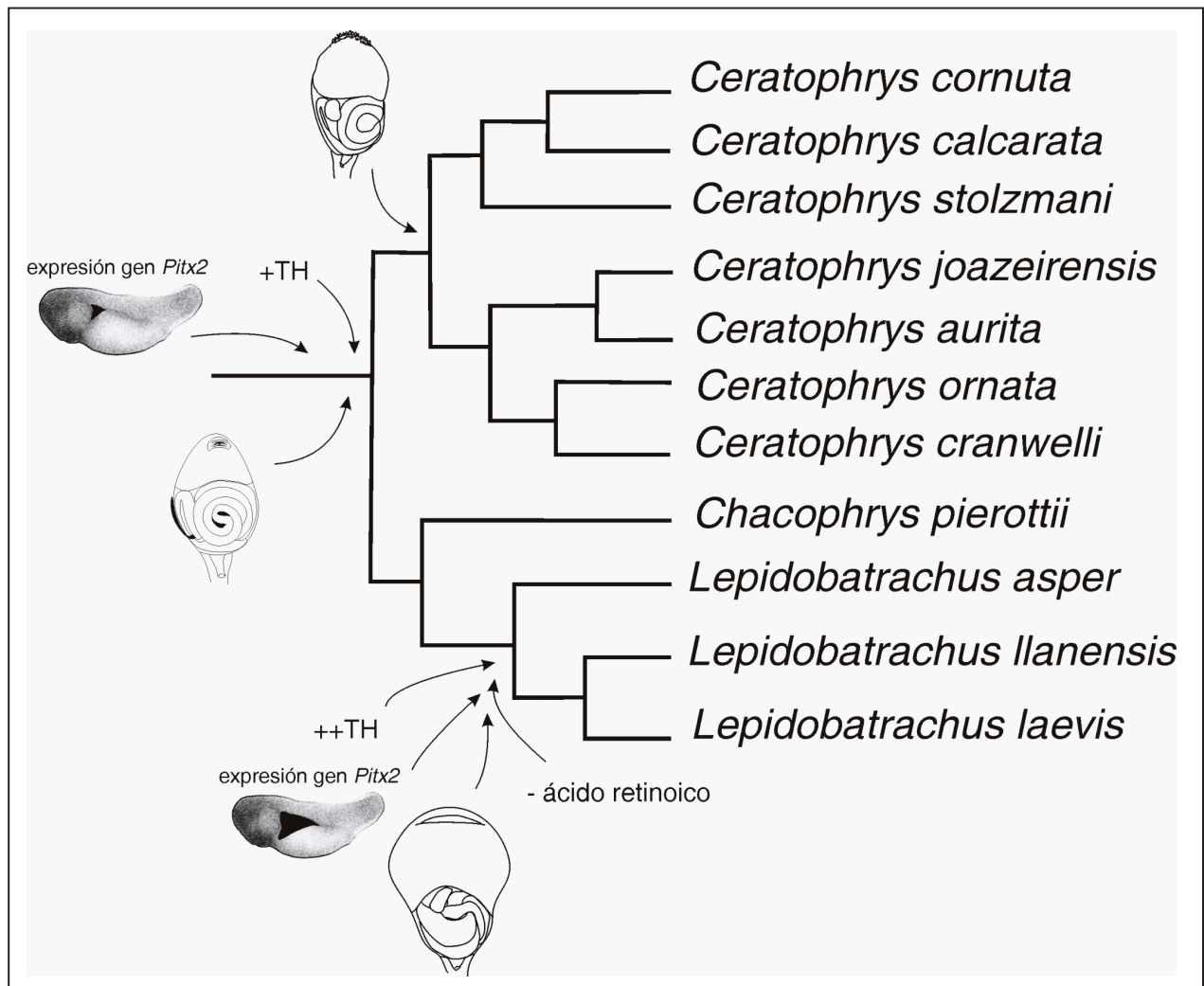


Figura 6. La filogenia de los Ceratophryidae (Faivovich *et al.*, 2014) permite interpretar los mecanismos epigenéticos que evolucionaron en el morfotipo larval tipo carnívoro depredador. Los estudios moleculares indicaron que un incremento en T3, un descenso en la cantidad de ácido retinoico y la expresión extendida del gen *Pitx2* originan el morfotipo carnívoro depredador.

incrementa la cantidad de hormona producida para acelerar los cambios metamórficos (Dodd y Dodd, 1976); y (3) los morfotipos carnívoros incorporan dosis extras de TH exógena o sus precursores a partir una dieta exclusivamente de origen animal (Pfennig, 1990b; Kupferberg, 1997). Cabe destacar que en la dieta de los escuerzos se encuentran anfípodos de agua dulce (*Hyaella* spp.) y además, que en el caso de *Lepidobatrachus* el canibalismo está exacerbado, aunque se han descrito diferentes mecanismos anti-depredador para evitarlo (Natale *et al.*, 2011; Salgado Costa *et al.*, 2014; 2015).

Consideraciones finales

La mayoría de las investigaciones que forman parte del paradigma de la Evolución del Desarrollo (Evo-Devo) provienen de estudios moleculares y experimentales donde la Genética Molecular y la Genética

del Desarrollo han provisto de la información más precisa y novedosa para entender temas focales.

En este trabajo se han analizado diversos factores (competencia intra- e interespecífica, dieta, desecación, fisiología de la hormona tiroidea) que convergen durante el desarrollo de *Spea* de ambientes semiáridos en la modificación de las tasas de crecimiento y desarrollo; con algunos paralelismos que podrían establecerse con los ceratófridos. También se han descrito algunos mecanismos (pequeñas moléculas en el desarrollo inicial y/o la incorporación de precursores de hormonas tiroideas en la dieta y/o la expresión más extendida de un gen) que habrían originado el morfotipo carnívoro-depredador de las larvas de *Lepidobatrachus*. Recientemente, Amin *et al.* (2015) propusieron al desarrollo embrionario de *Lepidobatrachus* como un nuevo modelo para investigaciones de Genética del Desarrollo y Fabrezi *et al.*

(2016) interpretaron la forma de *Lepidobatrachus* a partir de reducción de las diferencias ecomorfológicas entre larvas y adultos, donde la deriva estaría relacionada con la alimentación.

Así, los Scaphiopodidae y los Ceratophryidae, dos grupos de anuros muy distantes entre sí pero que muestran convergencias relacionadas con su estilo de vida, representan casos de estudio que permiten comprender la causalidad (epigénesis) y mecanismos (epigenética) en el origen de la variación morfológica.

Agradecimientos

S. Quinzio, J. Goldberg y A. Manzano leyeron críticamente distintas versiones del manuscrito. J.C. Cruz, D. Slodki y M. Chuliver Pereyra discutieron ideas e interpretaciones. Los editores de Cuadernos de Herpetología (M. Vaira y C. de Oliveira) y un revisor anónimo realizaron sugerencias muy valiosas a la versión final. Esta investigación tiene financiamiento de FONCyT a través del PICT 2014-0510.

Literatura citada

- Alberch, P. & Blanco, M.J. 1996. Evolutionary patterns in ontogenetic transformation from laws to regularities. *International Journal of Developmental Biology* 40: 845-858.
- Alberch, P. & Gale, E. 1983. Size dependence during the development of the amphibian foot. Colchicine-induced digital loss and reduction. *Journal of Embryology & Experimental Morphology* 76: 177-197.
- Amin, N.M.; Womble, M.; Ledon-Rettig, C.; Hull, M.; Dickinson, A.; & Nascone-Yoder, N. 2015. Budgett's frog (*Lepidobatrachus laevis*): a new amphibian embryo for developmental biology. *Developmental Biology* doi: org/10.1016/j.ydbio.2015.06.007
- Bloom, S.; Ledon-Rettig, C.; Infante, C.; Everly, A. & Hanken, J. 2013. Developmental origins of a novel gut morphology in frogs. *Evolution & Development* 15: 213-223.
- Bonasio, R. 2015. The expanding epigenetic landscape of non-model organisms. *The Journal of Experimental Biology* 218: 114-122.
- Buchholz, D.R. & Hayes, T. 2005. Variation in thyroid hormone action and tissue content underlies species differences in the timing of metamorphosis in desert frogs. *Evolution & Development* 7: 458-467.
- Carroll, E.J.; Seneviratne, A.M. & Ruibal, R.R. 1991. Gastric pepsin in an anuran larva. *Development, Growth & Differentiation* 33: 499-507.
- Denver, R.J. 2013. Neuroendocrinology of amphibian metamorphosis. *Current Topics in Developmental Biology* 103: 195-227.
- Dodd, M.H.I. & Dodd, J.M. 1976. The biology of metamorphosis: 467-599. En: Lofts, B. (ed.), *Physiology of the Amphibia*. Academic Press Inc., New York.
- Downie, J.R.; Bryce, R. & Smith, J. 2004. Metamorphic duration: An under-studied variable in frog life histories. *Biological Journal of the Linnean Society* 83: 261-272.
- Emerson, S.B. 1988. The giant tadpole of *Pseudis paradoxa*. *Biological Journal of the Linnean Society* 34: 93-104.
- Etkin, W. 1936. The phenomena of the anuran metamorphosis. III. The development of the thyroid gland. *Journal of Morphology* 59: 68-89.
- Fabrezi, M. 2011. Heterochrony in growth and development in anurans from the Chaco of South America. *Evolutionary Biology* 38: 390-411.
- Fabrezi, M. 2012. Heterocronía y variación morfológica en anuros. *Cuadernos de Herpetología* 26: 29-47.
- Fabrezi, M. & Cruz, J.C. 2014. Ontogeny of the thyroid glands during larval development of South American horned frogs (Anura, Ceratophryidae). *Evolutionary Biology* 41: 606-618.
- Fabrezi, M.; Quinzio, S.I.; Goldberg, J.; Cruz, J.C.; Chuliver Pereyra, M. & Wassersug, R.J. 2016. Developmental changes and novelties in ceratophryid frogs. *EvoDevo* 7: doi: 10.1186/s13227-016-0043-9.
- Faivovich, J.; Nicoli, L.; Blotto, B.L.; Pereyra, M.O.; Baldo, D.; Barrionuevo, J.S.; Fabrezi, M.; Wild, E.R. & Haddad, C.F.B. 2014. Big, bad, and beautiful: Phylogenetic relationships of the horned frogs (Anura: Ceratophryidae). *South American Journal of Herpetology* 9: 1-21.
- Frost, D.R. 2015. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. Disponible en: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>. Último acceso: 12 diciembre 2015.
- Gomez-Mestre, I.; Kulkarni, S. & Buchholz, D.R. 2013. Mechanisms and consequences of developmental acceleration in tadpoles responding to pond drying. *PLoS ONE* 8: e84266.
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Gould, S.J. 1977. *Ontogeny and Phylogeny*. The Belknap Press of Harvard University Press. Cambridge.
- Hanken, J. 2003. Direct development: 97-102. En: Hall, B.K. & Olson, W.M. (eds). *Keywords & Concepts in Evolutionary Developmental Biology*. Cambridge. Cambridge: Harvard University Press.
- Kerney, R.; Wassersug, R.J. & Hall, B.K. 2009. Skeletal advance and arrest in giant non-metamorphosing African clawed frog tadpoles (*Xenopus laevis*: Daudin). *Journal of Anatomy* 216: 1-12.
- Kupferberg, S. 1997. The role of larval diet in anuran metamorphosis. *American Zoologist* 37: 146-159.
- Ledón-Rettig, C.C.; Pfennig, D.W. & Crespi, E.J. 2009. Stress hormones and the fitness consequences associated with the transition to a novel diet in larval amphibians. *Journal of Experimental Biology* 212: 3743-3750.
- Ledón-Rettig, C.C.; Pfennig, D.W. & Crespi, E. J. 2010. Diet and hormonal manipulation reveal cryptic genetic variation: Implications for the evolution of novel feeding strategies. *Proceedings of the Royal Society B* 277: 3569-3578.
- Martin, R.A. & Pfennig, D.W. 2010. Maternal investment influences expression of resource polymorphism in amphibians: implications for the evolution of novel resource-use phenotypes. *PLoS ONE* 5: e9117.
- Morvan Dubois, G.; Sebillot, A.; Kuiper, G.G.J.M.; Verhoelst, C.H.J.; Darras, V.M.; Visser, T.J.; et al. 2014. Deiodinase

- activity is present in *Xenopus laevis* during early embryogenesis. *Endocrinology* 147: 4941-4949.
- Müller, G.B. & Olsson, L. 2003. Epigenesis and epigenetics: 114-123. *En: Hall, B.K. & Olson, W.M (eds.). Keywords & Concepts in Evolutionary Developmental Biology*. Harvard University Press, Cambridge
- Natale, G.S.; Alcalde, L.; Herrera, R.; Cajade, R.; Schaefer, E.F.; Marangoni, F. & Trudeau, V.L. 2011. Underwater acoustic communication in the macrophagic carnivorous larvae of *Ceratophrys ornata* (Anura: Ceratophryidae). *Acta Zoologica* 92: 46-53.
- Oster, G.F.; Shubin, N.; Murray, J.D. & Alberch, P. 1988. Evolution and morphogenetic rules. The shape of the vertebrate limb in ontogeny and phylogeny. *Evolution* 42: 862-884.
- Pfennig, D.W. 1990a. "Kin recognition" among spadefoot toad tadpoles: a side-effect of habitat selection? *Evolution* 44: 785-798.
- Pfennig, D. 1990b. The adaptive significance of an environmentally-cued developmental switch in an anuran tadpole. *Oecologia* 85: 101-107.
- Pfennig, D.W. 1992. Proximate and functional causes of polyphenism in an anuran tadpole. *Functional Ecology* 6: 167-174.
- Pfennig, D.W. & Murphy, P.J. 2000. Character displacement in polyphenic tadpoles. *Evolution* 54: 1738-1749.
- Pfennig, D.W.; Reeve, H.K. & Sherman, P.W. 1993. Kin recognition and cannibalism in spadefoot toad tadpoles. *Animal Behaviour* 46: 87-94.
- Pyrón, R.A. & Wiens, J.J. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2,800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61: 543-583.
- Quinzio, S.; Fabrezi, M. & Faivovich, J. 2006. Redescription of the tadpole of *Chacophrys pierottii* (Vellard, 1948) (Anura, Ceratophryidae). *South American Journal of Herpetology* 1: 202-209.
- Quinzio, S.I. & Fabrezi, M. 2014. The lateral line system in anuran tadpoles: Neuromast morphology, arrangement and innervation. *Anatomical Record* 8: 1508-1522.
- Reilly, S.M.; Wiley, E.O. & Meinhardt, D.J. 1997. An integrative approach to heterochrony: The distinction between interspecific and intraspecific phenomena. *Biological Journal of the Linnean Society* 60: 119-143.
- Roelants, K.; Haas, A. & Bossuyt, F. 2011. Anuran radiations and the evolution of tadpole morphospace. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 108: 8731-8736.
- Rot-Nikcevic, I. & Wassersug, R.J. 2003. Tissue sensitivity to thyroid hormone in athyroid *Xenopus laevis* larvae. *Development Growth Differentiation* 2003: 321-325.
- Rot-Nikcevic, I. & Wassersug, R.J. 2004. Arrested development in *Xenopus laevis* tadpoles: How size constrains metamorphosis. *Journal of Experimental Biology* 207: 2133-2145.
- Ruibal, R.R. & Thomas, E. 1988. The obligate carnivorous larvae of the frog *Lepidobatrachus laevis* (Leptodactylidae). *Copeia* 1988: 591-604.
- Salgado Costa, C.; Chuliver Pereyra, M.; Alcalde, L.; Herrera, R.; Trudeau, V.L. & Natale, G.S. 2014. Underwater sound emission as part of an antipredator mechanism in *Ceratophrys cranwelli* tadpoles. *Acta Zoologica* 95: 367-374.
- Salgado Costa, C.; Trudeau, V.L.; Ronco, A. & Natale, G.S. 2015. Exploring antipredator mechanisms: New findings in ceratophryid tadpoles. *Journal of Herpetology* doi: 10.1670/14-179.
- Schreiber, A.M.; Liqun, C. & Brown, D.D. 2005. Remodeling of the intestine during metamorphosis of *Xenopus laevis*. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 102: 3720-3725.
- Stolow, M.A.; Ishizuya-Oka, A.; Su, Y. & Shi, Y.-B. 1997. Gene regulation by thyroid hormone during amphibian metamorphosis: Implications on the role of cell-cell and cell-extracellular matrix interactions. *American Zoologist* 37: 195-207.
- Ulloa Kreisel, Z.E. 2001. Metamorfosis del aparato digestivo de larvas carnívoras de *Ceratophrys cranwelli* (Anura: Leptodactylidae). *Cuadernos de Herpetología* 14: 105-116.
- Ulloa Kreisel, Z.E. 2002. Características morfológicas del tubo digestivo en larvas carnívoras de *Lepidobatrachus laevis* (Anura: Leptodactylidae). *Acta Zoologica Lilloana* 46: 31-38.
- Waddington, C.H. 1956. Genetic assimilation of the biotroax phenotype. *Evolution* 10: 1-13.
- Wassersug, R.J. 1997. Where the tadpole meets the world—Observations and speculations on biomechanical and biochemical factors that influence metamorphosis in anurans. *American Zoologist* 37: 124-136.
- Wassersug, R.J. & Heyer, W.R. 1988. A survey of internal oral features of Leptodactylid larvae (Amphibia: Anura). *Smithsonian Contributions to Zoology* 457: 1-96.
- Weber, G.M.; Farrar, E.S.; Tom, C.K.F. & Grau, E.G. 1994. Changes in whole-body thyroxine and triiodothyronine concentrations and total content during early development and metamorphosis of the toad *Bufo marinus*. *General and Comparative Endocrinology* 94: 62-71.
- Wilbur, H.M. & Collins, J.P. 1973. Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science* 182: 1305-1314.

